

HPLC 法测定肾合口服液中淫羊藿苷的含量

迟建平¹, 何希荣², 杨立新^{2*}

(1. 首都医科大学附属北京友谊医院, 北京 100055; 2. 中国中医科学院中药所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立了肾合口服液中淫羊藿苷的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 色谱柱为 ZORBAX RX-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相采用甲醇-水-冰醋酸(50:50:0.5), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 270 nm, 柱温为 35℃。结果: 淫羊藿苷在 0.2 ~ 1.0 μg 范围线性关系良好, $r=0.9999$, 平均回收率 100.1%, RSD 为 1.79%。结论: 该法分离好, 快速、简便, 重复性好, 可作为该产品的质量控方法。

[关键词] 肾合口服液; 淫羊藿苷; 高效液相色谱法; 大孔树脂

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)03-0042-02

肾合口服液是由淫羊藿、鹿茸、菟丝子、蛤蚧、巴戟天、黄芪、当归、枸杞子、茯苓等中药组成, 具有壮阳滋阴、益气健脾、养血生精功能, 用于阳痿早泄、神疲乏力、失眠健忘、食欲不振等。为保证药物的安全性, 有效性和可控性, 采用高效液相色谱法测定淫羊藿中淫羊藿苷的含量^[1], 并进行了方法学研究。为控制该产品的质量提供了依据。

1 仪器与试剂

美国 HP1100 高效液相色谱仪, G1311A 四元泵, G1313A 自动进样器, G1316A 柱温箱, G1315A 二极管矩阵检测器, HPCHEM 色谱工作站。对照品淫羊藿苷(批号 0737-9910) 购自中国药品生物制品检定所。甲醇为色谱纯(天津市四友生物医学技术有限公司), 高纯水。

2 含量测定

2.1 色谱条件 色谱柱: ZORBAX RX-C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流速 1.0 mL · min⁻¹, 检测波长 270 nm, 柱温 35℃, 流动相: 水-甲醇-冰醋酸(50:50:0.1)

2.2 标准曲线的制备 取干燥至恒重的淫羊藿苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 mL 含 0.10 mg 的溶液。精密吸取 2, 4, 6, 8, 10 μL 注入液相色谱仪, 连续进行 3 次, 测定峰面积, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 回归方程为 $Y=$

$4.2407X+2178.4634$, $r=0.9998$ 。结果表明, 淫羊藿苷在 0.2 ~ 1.0 μg 范围内线性良好。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取在 105℃ 干燥至恒重的淫羊藿苷对照品适量, 加流动相制成每 1 mL 含 0.10 mg 的溶液。

2.4 供试品溶液的制备 取本品 10 mL, 蒸至 2 mL, 加至已处理好的大孔树脂柱(D103 型大孔树脂 20 ~ 60 目, 内径: 1.5 cm, 装量: 9 cm) 上。分别用水 250 mL, 25% 乙醇 150 mL 洗脱, 弃去洗脱液, 再用乙醇 150 mL 洗脱, 收集洗脱液, 减压回收至干, 残渣加甲醇使溶解, 并转移置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.5 μm) 滤过, 即得。

2.5 阴性对照溶液的制备 按处方组成, 取不含淫羊藿的群药, 按制备工艺制成不含淫羊藿的样品, 按 2.4 项下的方法制成阴性对照溶液, 结果其与淫羊藿苷色谱所对应位置上没有相应色谱峰, 对测定无干扰。

2.6 精密度试验 精密吸取供试品溶液, 按上述色谱条件进样 5 μL, 重复进样 5 次, 测定峰面积, 计算 $RSD=0.77%$ 。表明仪器精密度良好。

2.7 稳定性考察 取供试品分别于 0, 1, 2, 4, 6, 24 h 测定淫羊藿苷峰面积, 计算其 $RSD=1.12%$, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

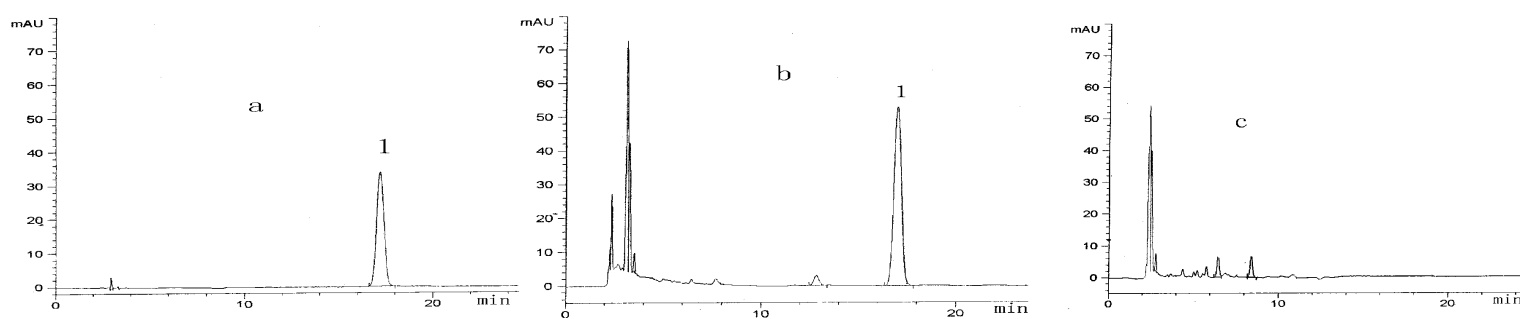
2.8 重复性试验 取同一批样品 5 份, 按 2.4 项下方法制备的供试品溶液, 按上述色谱条件测定含量, 结果淫羊藿苷的平均含量为 $1.22 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, $RSD=2.3%$ 。

2.9 回收率试验 取已知含量的样品 5 份, 每份约

[收稿日期] 2009-09-11

[通讯作者] * 杨立新, Tel: (010) 84042451; E-mail: ayblcx@

126.com



a. 对照品溶液; b. 供试品溶液; c. 空白溶液; 1 淫羊藿苷

图 1 肾合口服液的高效液相色谱图

5 mL, 精密称定, 分别精密加入淫羊藿苷对照品适量, 按上述供试品溶液的制备方法制备, 测定, 计算回收率, 结果平均回收率为 100.11%, 相对标准偏差为 1.8%。

表 1 加样回收率 (n = 5)

编号	称样量 (mL)	样品中淫羊藿苷量 (ng)	加入淫羊藿苷量 (ng)	检出淫羊藿苷量 (ng)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	5	0.61	0.78	1.3769	98.32		
2	5	0.61	0.78	1.3513	95.04		
3	5	0.61	0.78	1.3915	100.19	97.75	1.96
4	5	0.61	0.78	1.3767	98.29		
5	5	0.61	0.78	1.3658	96.90		

2.10 样品测定 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 μ L, 注入液相色谱仪, 按照外标一点法计算三批样品淫羊藿苷含量为 1.20, 1.24, 1.22 mg \cdot mL⁻¹。

3 讨论

淫羊藿为肾合口服液的君药, 且淫羊藿苷的含量较高, 以其作为含量测定的指标成分, 能够反映该制剂的质量, 因此, 本品以淫羊藿苷的含量作为质量控制的指标是合理的。由于本复方制剂药味多, 成分比较复杂, 故本文供试品采用大孔树脂净化, 分别用水 100 mL, 25% 乙醇 100 mL 洗脱, 再用乙醇 100 mL 洗脱, 结果表明水和 25% 乙醇未检出淫羊藿苷, 并可除去大量水溶性干扰成分, 而 100 mL 可将淫羊藿苷全部洗脱完全, 达到良好分离效果。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005: 229.

欢迎订阅 2010 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》是经中国科技部批准, 由国家中医药管理局主管, 中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物。已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊); “中国中文核心期刊”、“中国学术期刊综合评价数据库”来源期刊; “中国期刊网、中国学术期刊(光盘版)”全文收录期刊; 并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊(光盘版)优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月。本着以提高与普及相结合的办刊方针。主要设置: 制剂工艺、化学与分析、药理、临床、综述、基层园地、消息等栏目, 交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量分析、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。

《中国实验方剂学杂志》现为月刊, 16 开本, 130 页, 标准刊号: ISSN1005-9903; CN11-3495/R。每期定价 10 元, 全年 120 元。国内外公开发售, 国内由北京市报刊发行局办理总发行, 邮发代号: 2-417; 国外由中国国际图书贸易总公司办理发行, 代号: BM4655。欢迎订阅。本编辑部也办理邮购。地址: 北京市东直门内南小街 16 号, 《中国实验方剂学杂志》编辑部。邮编: 100700, 联系人: 何希荣, 联系电话: (010) 84076882 或 64014411 转 2849; E-mail: czd@vip.sina.com